

Aus der Hämatologischen Abteilung (Leiter: Prof. Dr. H. Gerhartz)
der I. Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin
Im Städtischen Krankenhaus Westend
Direktor: Prof. Dr. med., Dr. sc. h.c., Dr. med. vet. h.c., Dr. med. h.c.
Hans Freiherr von Kreß

Vergleichende Chemotherapie eines experimentellen Mäuse-Plasmocytoms

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität
Berlin

1967

H. Hintzen - geb. Tusch

Aus der Hämatologischen Abteilung (Leiter: Prof. Dr. H. Gerhartz)
der I. Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin
im Städtischen Krankenhaus Westend
Direktor: Prof. Dr. med., Dr. sc. h.c., Dr. med. vet. h.c., Dr. med. h.c.
Hans Freiherr von Kreß

Vergleichende Chemotherapie eines experimentellen Mäuse-Plasmocytoms

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität
Berlin

vorgelegt von
Hannelore Lintzen, geb. Fuchs
aus Oppeln

Dekan: Professor Dr. med. Alfred N. Witt

Referent: Professor Dr. med. Heinrich Gerhartz

Korreferent: Professor Dr. med., Dr. med. dent. Ewald Harndt



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 19. Januar 1967

Inhalt

A. PROBLEMSTELLUNG	5
B. METHODIK	7
C. ERGEBNISSE	10
1.) Befunde bei gesunden Mäusen	10
2.) Krankheitsverlauf und Befunde bei PC ₅ - Kontrollmäusen	10
3.) Krankheitsverlauf und Befunde bei PC ₅ -Mäusen unter dem Ein- fluß der Chemotherapie	15
Versuchsserie I.	16
Versuchsserie II.	21
D. SCHLUSSFOLGERUNGEN	25
E. ZUSAMMENFASSUNG	30
F. LITERATURVERZEICHNIS	44



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. PROBLEMSTELLUNG

Die ermutigenden Erfolge der Chemotherapie bei menschlichen Plasmocytomerkrankungen beruhen weniger auf der Entwicklung intensiver wirkender Cytostatica neuer Wirkungsart; sie sind vielmehr das Ergebnis einer Weiterentwicklung bereits gut bekannter alkylierender Substanzen aus der Gruppe der N-Lost-Derivate, wobei klinische Versuche mit den übrigen Cytostatica (wie den Äthylenimininen, Mitoseblockern oder Antimetaboliten) ebenso wie Versuche mit Corticosteroiden allein ohne wesentliche Erfolge blieben (10, 11). Eine Rückbildung der plasmazellulären Hyperplasie des Knochenmarks, der elektrophoretischen Serumeiweiß-Veränderungen und der Folgeerscheinungen der Paraproteinämie ist jedoch erst dann zu erreichen, wenn die Chemotherapie anhaltend über einen Zeitraum von mehr als etwa drei Monaten in einer genügend hohen Dosierung verabfolgt wird (11, 28).

Angesichts der zumeist bereits primär deutlichen Pancytopenie verbietet sich fast regelmäßig eine initiale Stoßtherapie mit höheren Dosen. Als brauchbar erwiesen sich klinisch nur solche Cytostatica, deren Wirkungsintensität durch Verschlüsselung des Grundmoleküls in eine verzögert einsetzende und über Stunden anhaltende Aktivierung nach Art einer Depotwirkung umgewandelt wurde (11, 28). Die Geschwindigkeit der Aktivierung bleibt nicht ohne Einfluß auf die Wirkungselektivität eines Cytostaticums: Rasch und intensiv wirkende Cytostatica treffen, ähnlich wie die ionisierenden Strahlen, die proliferierenden Gewebe weniger gerichtet und verfügen daher über eine geringere therapeutische Breite (11). Verzögert wirksam werdende Cytostatica zielen stärker auf die Granulopoese und das globulinproduzierende System der Plasmazellen. Infolge einer stärkeren Ausnützung des intrazellulären Wirkungsgefälles ist ihre cystostatische Aktivität intensiver auf das Cytoplasma als auf den Zellkern gerichtet, wodurch eine höhere organotrope Selektivität möglich wird (1, 11, 17).

Unter den verzögert wirkenden Cytostatica haben sich das 1,4 (Dimethyl-sulfanyl-dioxy) - butan (Myleran[®]) bei den chronischen myeloischen Leukämien, das Cyclophosphamid (Endoxan[®]) und das L-p- (Di-2-chloraethyl-amino) - phenylalanin (Melfalan = Alkeran[®])

bei den mit stärkeren Dys- oder Paraproteinämien einhergehenden Plasmocytomen, Retikulosen und Lymphogranulomatosen, sowie das Azathioprin (Imuran[®]) zur Unterbrechung von Immunreaktionen insbesondere nach Organtransplantationen und bei Leberfibrosen klinisch bewährt (14). Bei Plasmocytomen und Retikulosen erwies sich das Cyclophosphamid gegenüber den anderen Drogen wegen seiner geringeren thromboklastischen Eigenschaft als überlegen (11, 14, 17, 20, 28). Ziel der eigenen Arbeit war es, an einem mit einer typischen Paraproteinämie einhergehenden Mäuseplasmocytom experimentell zu prüfen, ob und inwieweit sich Unterschiede in der Beeinflussung der Krankheitssymptomatik und des Krankheitsverlaufs durch die Chemotherapie mit einem Cytostaticum von ausgesprochen verzögertem Wirkungstyp (Cyclophosphamid = Endoxan[®]) und einem Cytostaticum von besonders intensiver und rasch einsetzender Wirkungsart (Trisäthyleniminobenzochinon = Trenimon[®]) ergeben.

B. METHODIK

Dem menschlichen Plasmocytom ähnliche transplantable Experimentaltumoren sind bisher nur bei der Maus erzielt worden, und zwar bei den Inzuchtstämmen C₃H (6, 7, 22, 24), CAF (33) und Balb/c (7, 17, 18, 22, 25, 27, 28).

Als Versuchstiere dienten ausschließlich weibliche erwachsene, weiße Inzuchtmäuse des Stammes Balb/c, die wir direkt aus den Laboratories of Biology and Chemistry, Bethesda/Maryland (USA)¹ zur Verfügung gestellt erhielten. Die Tiere wurden in Plastikkäfigen gehalten; zur Fütterung verwandten wir standardisiertes Preßfutter und Zapfwasser ad libitum.

Als Experimentaltumor diente der Plasmazelltumor PC₅, den wir ebenfalls aus Bethesda erhielten, wo er wie folgt gewonnen worden war: Insgesamt 32 sechs Wochen alte weibliche Balb/c-Mäuse erhielten jeweils 0,3 ml einer erhitzten Paraffinöl-Staphylokokken-Emulsion intraperitoneal injiziert. Aus dieser Serie entwickelten vier Mäuse im Alter von siebeneinhalb bis zehneinhalb Monaten multiple, aus Plasmazellen bestehende Tumorknoten an der peritonealen Oberfläche des Mesenteriums mit hämorrhagischem Ascites. Die Erkrankungssymptomatik ging mit einer intensiven Vermehrung unreifer Plasmazellen und plasmazellulärer Retikulumzellen im Knochenmark wie auch in der Leber und Milz einher. Unter diesen vier Tumormäusen fand sich nur eine mit einer intensiven homologen γ -Hyperglobulinämie und Hyperproteinämie, während die anderen drei Tumoren hohe β -Globulinfraktionen hatten. Dieser, dem menschlichen Plasmocytom ähnliche Plasmazelltumor (genannt PC₅) blieb durch Transplantationen auf Balb/c-Mäuse erhalten (27). Für unsere eigenen experimentellen Arbeiten wurden uns 6 tumortragende Tiere überlassen. Nach Aufzucht eigener Balb/c-Mäuse transplantierten wir den mittels Präparation gewonnenen Plasmazelltumor durch Inokulation von kleingehacktem und in Ringer gelöstem Tumorbrei in das subcutane Gewebe der Flanke (6, 9, 17) mehrerer Versuchstiere, wonach es innerhalb von etwa acht Tagen zur Entwicklung eines zunächst lokal, später intraperitoneal wachsenden Tumors kam.

1) Herrn Dr. M. Potter bin ich für die Überlassung der Tiere zu großem Dank verpflichtet.

Die Chemotherapie der erkrankten Versuchstiere wurde mit Cyclophosphamid bzw. mit Trisäthyleniminobenzochinon in unterschiedlichen Dosen durchgeführt. Die Befunde der beiden Versuchsgruppen wurden miteinander sowie mit einer unbehandelten PC₅-Kontrollgruppe und einer Gruppe gesunder Balb/c-Mäuse verglichen. Den Einfluß der Chemotherapie auf die Krankheitssymptomatik der Plasmocytom-Mäuse beurteilten wir nach folgenden Gesichtspunkten:

- 1.) Bestimmung des Körpergewichts in zweitägigen Abständen;
- 2.) Ermittlung der Beeinflussung des peripheren Blutzellbestandes durch Zählung der Erythrocyten und Leukocyten (Zählkammermethode) sowie die Differenzierung des Blutzellbildes im nach Pappenheim gefärbten Ausstrich vom Schwanzvenenblut der Versuchstiere in wöchentlichen Abständen;
- 3.) Erfassung der Krankheitsdauer, d.h. des Zeitraumes in Tagen zwischen der Tumortransplantation und dem Tode der Versuchstiere;
- 4.) Bestimmung des Tumorgewichtes nach Präparation aller Tumorknoten am spontan verstorbenen oder bei Versuchsende getöteten Tier;
- 5.) Erfassung der Hemmung der Hämoopoese durch Bestimmung des Zellgehaltes im Femurmark. Hierzu wurde im unmittelbaren Anschluß an die Tötung der Versuchstiere oder nach dem spontan erfolgten Tod ein Femur entnommen und dieser der Länge nach mit dem Skalpell gespalten. Vom Knochenmark wurden Ausstriche angefertigt und nach Pappenheim gefärbt. Mittels der von SANDKÖHLER (30) angegebenen Methode erfolgte zunächst mit Hilfe eines Spezialokulars (Leitz) die Bestimmung des Gesamtzellbestandes pro cm² und sodann nach Differenzierung der Ausstriche (jeweils tausend Zellen pro Ausstrich bei Ölimmersion) die Umrechnung der für die einzelnen Zellarten gefundenen Relativwerte auf absolute Werte.
- 6.) Refraktometrische Bestimmung des Gesamtproteingehaltes im Serum zur Ermittlung der Serumeiweißfraktionen a) mit Hilfe der Papierelektrophorese am hängenden Streifen in der Anordnung von Durrum bei einer Auftragung von jeweils 0,025 ml Serum (Puffer PH 8,8; 1 mA/cm²), b) mit Hilfe der Agarelektrophorese nach Grabar (Pasteur-Institut Paris). Die Auswertung erfolgte nach Bromphenolblaufärbung durch Transparentphotometrie im Integralschreiber nach Zeiß. Das für die Serumelektrophoresen notwendige Blut wurde den Versuchstieren unmittelbar nach der Tötung durch Dekapitation bzw. möglichst früh nach dem Spontanod entnommen.

Aus den Einzelwerten der Ergebnisse bei jedem Versuchstier errechneten wir für jede Versuchsgruppe getrennt den arithmetrischen Mittelwert $\bar{x}$ nach der Formel $\bar{x} = Sx/n$ und dessen Standardabweichung S nach der Formel

$$S = \sqrt{\frac{Sx^2 - (Sx)^2/n}{n - 1}}$$

C. ERGEBNISSE

1.) Befunde bei gesunden Mäusen

Die von uns als Versuchstiere benutzten Balb/c-Mäuse erreichen nach Abschluß ihrer Entwicklung ein durchschnittliches Körpergewicht von etwa 20 g. Der Blutzellgehalt gesunder Mäuse ist starken Schwankungen unterworfen in Abhängigkeit vom Tierstamm, von der Art und Häufigkeit der Blutentnahme sowie vom Alter der Tiere. Allein die wiederholte Blutentnahme führt gelegentlich zu stärkeren Leukocytosen (31). Die von uns als Mittelwert von 10 gesunden Mäusen erhobenen Befunde sind in der Tab. 1 den Angaben anderer Autoren gegenübergestellt und stimmen mit diesen im wesentlichen überein.

Den Knochenmarkszellgehalt gesunder Balb/c-Mäuse bestimmten wir aufgrund der Befunde an nur zwei Tieren, da die uns zur Verfügung stehenden Balb/c-Mäuse während der Versuchsserie an einer Pockeninfektion eingingen. Als Ergänzung untersuchten wir später das Knochenmark von fünf gesunden C₃H-Mäusen. Die hierbei gefundenen Werte stimmten mit den bei den zwei Balb/c-Mäusen gefundenen Werten weitgehend überein und liegen zwischen den von KÖHLER und DUMAS (15) angegebenen Werten. Relativwerte (Tab. 2) und Absolutwerte (Tab. 4).

Die Bestimmung des Serumeiweißgehaltes wurde von POTTER an fünf gesunden Tieren des auch uns zur Verfügung gestellten gleichen Balb/c-Mäusestammes durchgeführt (23). Dabei fand sich als Mittelwert ein Gesamteiweißspiegel von 5,4 g % sowie ein Albumingehalt von 2,95 g %; die α_1 -Globuline betrugen 0,25 g %, die α_2 - und α_3 -Globuline 0,84 g %, die β -Globuline 0,87 g % und die γ -Globuline 0,46 g %.

2.) Krankheitsverlauf und Befunde bei PC₅-Kontrollmäusen

In einer I. Versuchsserie blieben zur Kontrolle 9 Balb/c-Mäuse ohne Chemotherapie. Nach der Tumortransplantation entwickelte sich innerhalb von 8 Tagen bei allen Tieren im Bereich der Inokulationsstelle ein haselnußgroßer Tumor, der im weiteren Krankheitsverlauf kontinuierlich an Größe zunahm und zum Zeitpunkt des Todes der Versuchstiere einen Durchmesser von 2 bis 3 cm aufwies. Bei 2 Mäusen erfolgte ein Durchbruch des Tumors durch die Epidermis. Bei allen 9 Mäusen kam

es zum Tumoreinbruch in die freie Bauchhöhle mit massiver intraperitonealer Metastasierung, hämorrhagischem Ascites und Darmobstruktionen sowie zu Metastasen im Bereich des Mediastinums mit Einengung der großen Gefäße und Luftwege. Unter den Zeichen der Atemnot und Kachexie verstarben die Mäuse zwischen dem 15. und 26. Tag nach der Tumordinokulation. Die durchschnittliche Krankheitsdauer betrug 20,3 ($\pm$ 3,6) Tage (Abb. 1).

Das Körpergewicht der Kontrolltiere verzeichnete bis zum 10. Tag der Tumortransplantation einen leichten Anstieg, um dann jedoch zunächst stärker, ab 14. Tag verzögert abzufallen (Abb. 2).

An den spontan verstorbenen Tieren wurden die einzelnen Tumorknoten möglichst weitgehend und sauber präpariert und als Gesamtmenge gewogen. Die Tumorgewichte schwankten zwischen 0,2 und 6,6 g und betrugen im Durchschnitt 3,1 g (Tab. 3). Bei 5 der 7 Tiere fanden sich ca. 1 bis 2 ml Ascites.

Mikroskopisch zeigte das Tumorgewebe nach Paraffineinbettung und Hämalaun-Eosinfärbung ein äußerst zellreiches Bild mit spärlichem Bindegewebsgerüst (Abb. 3a). Die Masse der Zellen bestand aus kleinen bis mittelgroßen lymphocytenähnlichen Zellen mit rundlichem bis leicht ovalem Kern und zumeist deutlichem kreisrundem bis ovalem Plasmaleib (Abb. 3b). Der Kern war zuweilen exzentrisch gelagert; er wies eine auffallend unregelmäßige Chromatinstruktur auf mit polymorphen Chromatinverklumpungen und verstärkter Chromatinzeichnung an der Kernperipherie. Nicht selten waren Kernkörperchen zu sehen. Mitosen waren auffallend häufig. Vereinzelt fanden sich auch doppelkernige Zellen sowie hier und da atypische Risenzellen oder vielkernige Zellen. Neben diesen, den Plasmazellen nahestehenden Zellen erkannte man vereinzelt eosinophile Granulocyten. Die Tumorzellverbände hatten teilweise das Unterhautfettgewebe und die Muskulatur infiltrierend durchsetzt.

Da es vorübergehend an Balb/c-Mäusen mangelte, konnte eine II. Versuchsserie erst 8 Monate später begonnen werden. Inzwischen war der Plasmazelltumor zu seiner Erhaltung über 12 Tiere transplantiert worden, wobei er einem gewissen Gestaltswandel unterworfen war mit verminderter Malignität und gesteigerter Neigung zur Nekrose und zu

eitrigen Einschmelzungen. Von 10 unbehandelten Kontrollmäusen der II. Versuchsserie zeigten 4 Tiere nach anfänglichem Tumorwachstum spontane Rückbildung des lokalen Tumors bis zum vollständigen Schwund, bei 3 Tieren innerhalb von 14 Tagen. Bei einer weiteren fünften Maus wurde der Tumor durch die Epidermis abgestoßen unter Zurücklassung einer Hautulceration. 5 Mäuse starben zwischen dem 38. und 46. Tag unter den Zeichen der intraperitonealen Tumoraussaat und hämorrhagischen Peritonitis bei einer durchschnittlichen Krankheitsdauer von 42 ($\pm$ 4) Tagen. Diese dauerte demnach durchschnittlich 22 Tage länger als bei den Kontrolltumortieren der I. Versuchsserie. Die übrigen 5 Kontrolltiere wurden am 72. Tag getötet, ohne daß mikroskopisch bei der Obduktion ein Anhalt für eine Tumorerkrankung gefunden werden konnte.

Das Körpergewicht der Tiere der II. Versuchsserie blieb nach einem initialen Anstieg bis zum 10. Tag nach der Tumorinokulation mit nur geringen Schwankungen bis zum 56. Tag im wesentlichen konstant (Abb. 4).

Das mittlere Tumorgewicht (Tab. 3) von 4 Tieren der II. Versuchsserie betrug 4,7 g und lag damit höher als bei der I. Serie. Dies beruhte jedoch auf der außergewöhnlichen Größe eines isolierten Tumorknotens bei einem einzelnen der Kontrolltiere, wobei der Tumor ein Gewicht von 10,7 g aufwies. Makroskopisch zeigten die Tumormassen eine ausgedehnte Nekrotisierung und waren von Eiterpfropfen durchsetzt. Mikroskopisch war im Bereich des nicht nekrotischen Tumorgewebes kein wesentlicher Unterschied zur I. Versuchsserie erkennbar.

Um den Einfluß des Transplantationstumors sowie der wiederholten Blutentnahmen auf die Hämoopoese der Versuchstiere zu erfassen, ließen wir bei beiden Versuchsserien die Kontrolltiere bei der Bestimmung des Blut- und Knochenmarkzellgehaltes mitlaufen. Dabei fand sich im Blut ein linearer Abfall der Erythrocytenzahl für den 8. bis 15. Tag bei der I. Versuchsserie (Abb. 5) bzw. für den 8. bis 13. Tag bei der II. Versuchsserie (Abb. 6) bis zu einer Anämie von etwa 60 % des Ausgangswertes, die bei den Tieren der II. Versuchsserie dann bis zum 41. Tag ohne wesentliche Schwankungen konstant blieb. Die Leukocytenzahl verdoppelte sich bei beiden Ver-

suchsserien innerhalb der ersten 8 Tage. Sie fiel in der ersten Versuchsserie dann wieder bis auf 130 % des Ausgangswertes am 15. Tag ab, während sie in der II. Versuchsserie zunächst bis zum 20. Tag noch konstant blieb und anschließend einen starken neuen Gipfel vom Vierfachen des Ausgangswertes am 34. Tag aufwies. Dieser Anstieg war vorwiegend durch eine Vermehrung der Granulocyten im Blut bestimmt, während die Lymphocyten etwas trägere Schwankungen erkennen ließen. In der ersten Versuchsserie erreichten die Granulocyten das 3fache des Ausgangswertes am 8. Tag und lagen am 15. Tag noch über dem doppelten Ausgangswert. In der II. Versuchsserie erhöhte sich die Granulocytenzahl zunehmend vom 3fachen des Ausgangswertes am 8. Tag bis zu einem Gipfel vom fast 7fachen am 34. Tag und lag am 41. Tag immer noch über dem 5fachen des Ausgangswertes. Die Lymphocyten zeigten in der I. Versuchsserie bis zum 8. Tag einen Anstieg um etwa 50 % des Ausgangswertes und fielen bis zum 15. Tag wieder auf 88 % ab. In der II. Versuchsserie erreichte der Lymphocytenanstieg am 34. Tag das Zweieinhalbfache des Ausgangswertes und zeigte am 41. Tag immer noch den doppelten Ausgangswert.

Bei den tumortragenden Kontrolltieren war makroskopisch eine wesentliche Veränderung des gelatinösen grauroten Knochenmarks nicht zu erkennen. Die Gesamtzellzahl (Tab. 4) betrug als Mittelwert von jeweils 4 Tieren in der I. Serie $1.033.800/\text{cm}^2$ und in der II. Serie $861.600/\text{cm}^2$, was gegenüber dem Zellgehalt des Knochenmarks gesunder Mäuse ($917.000/\text{cm}^2$) einem Wert von 113 % bzw. 94 % entspricht. Die Erythropoese blieb relativ gering beeinflusst. Sie lag in der I. Versuchsserie geringfügig über, in der II. Versuchsserie etwas deutlicher unter dem Normalwert von rund $262.000/\text{cm}^2$. Die Granulopoese zeigte in beiden Versuchsserien eine Minderung um etwa $100.000/\text{cm}^2$ (= 20 % des Ausgangswertes), wobei eine deutliche prozentuale und absolute Verschiebung zugunsten der frühen Reifungsstufen (Myeloblasten bis Myelocyten) und zu Lasten der späteren Reifungsstufen (Metamayelocyten bis Segmentkernige) im Sinne der "Linksverschiebung" zu verzeichnen war. Die Erfassung der Thrombopoese durch Bestimmung des Gehaltes an Megakaryocyten ist wegen der ungleichmäßigen Verteilung der Megakaryocyten im Knochenmark mit größeren Fehlerquellen verbunden. Es zeigte sich jedoch regelmäßig eine Minderung der Megakaryocytenzahl, die in der I. Versuchsserie - 20 %,

in der II. Versuchsserie - 60 % gegenüber den Normaltieren betrug. Der Gehalt an Plasmazellen und lymphoiden Retikulumzellen fand sich bei den Kontroll-PC₅-Mäusen extrem gesteigert und erreichte bei beiden Versuchsserien etwa 20 % der Gesamtzellzahl. Dabei handelte es sich vorwiegend um wenig differenzierte Plasmazellen oder plasmazelluläre Retikulumzellen mit z.T. pyknotisch veränderten Kernen und schmalem Cytoplasma (Abb. 7).

Der Serumproteinspiegel betrug bei den tumortragenden Kontrolltieren zum Zeitpunkt des Todes als Mittel von jeweils vier Tieren 7,6 g % ($\pm 2,3$) (8,8 - 8,1 - 7,5 - 5,6) in der I. Versuchsserie (Abb. 8) bzw. 6,5 g % ($\pm 0,7$) (7,5 - 6,4 - 6,1 - 5,9) in der II. Versuchsserie (Abb. 9) und lag damit deutlich höher als bei den Normaltieren (5,4 g %).

Die quantitative Differenzierung mittels der Papier- und Agarelektrophorese zeigte bei allen Mäusen der I. Versuchsserie mit einer Ausnahme charakteristische schmalbasige Hyperglobulinämien, die den Befunden beim menschlichen Plasmocytom weitgehend ähnelten. Diese γ -Hyperglobulinämie ging dem Tumorgewicht weitgehend parallel. Mäuse mit stärkerer Vermehrung der γ -Globuline im Serum und stärkerem Serumproteinanstieg wiesen fast regelmäßig ein höheres Tumorgewicht auf. Als Mittelwert von 7 PC₅-Kontrolltieren fanden wir 24,3% (= 1,85 g %) Albumine, 7,3 % (= 0,55 g %) α_1 -Globuline, 10,6 % (= 1,26 g %) α_2 - und α_3 -Globuline, 21,9 % (= 1,68 g %) β -Globuline und 29,9 % (= 2,27 g %) γ -Globuline (Abb. 8).

Sowohl nach dem Elektrophoresebild als auch nach den quantitativen Auswertungen ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen den Plasmocytom-Mäusen und den nicht tumortragenden gesunden Mäusen. Die PC₅-Mäuse bei beiden Versuchsserien wiesen gegenüber den Normaltieren eine α_1 -Globulinvermehrung auf das Doppelte und eine Vermehrung der α_2 - und α_3 -Globuline um etwa 50 % auf. Die β -Globuline waren in der I. Versuchsserie bei den PC₅-Kontrollmäusen fast mit doppeltem Wert nachweisbar und lagen bei der II. Versuchsserie (Abb. 9) um etwa 80 % über dem Normalwert. Die Albumine waren bei der II. Versuchsserie gegenüber der Norm kaum vermindert, während sie in der I. Versuchsserie einen Abfall um 37 % des Ausgangswertes zeigten.

Die γ -Globulinfraktion erreichte in der I. Versuchsserie das 5fache des Wertes bei den Normaltieren, in der II. Versuchsserie fast das Doppelte des Normalwertes.

Als Beispiel sei die Elektrophorese einer gesunden Maus (Abb. 10) der Elektrophorese einer PC₅-Kontrollmaus (Abb. 11) gegenübergestellt. Wie dieser Vergleich zeigt, ist bei der tumortragenden Balb/c-Maus im γ -Globulinbereich eine scharf abgesetzte Paraproteinfraktion schon mit bloßem Auge zu erkennen. Entsprechend ergibt sich im Kurvenverlauf ein hoher schmalbasiger Gipfel der γ -Globulinfraktion.

Bei den 7 PC₅-tumortragenden Kontrolltieren der I. Versuchsserie, die einer cytostatischen Therapie nicht unterworfen waren, fanden sich 6 typische Paraproteinfraktionen im schnell wandernden γ -Globulinbereich und ein atypisches Diagramm von langsam wanderndem Paraprotein im γ -Globulinbereich. In der II. Versuchsserie jedoch zeigte von den 4 PC₅-Kontrollmäusen lediglich eine Serumelektrophorese die für das γ -Plasmocytom typische schmalbasige γ -Globulinfraktion (Abb. 12), während zwei Tiere eine angedeutete Paraproteinfraktion im langsam wandernden γ -Globulinbereich hatten. Ein Tier bot ein dysproteinämisches Bild.

3.) Krankheitsverlauf und Befunde bei PC₅-Mäusen unter dem Einfluß der Chemotherapie

Zur Prüfung des Einflusses cytostatischer Drogen auf den Krankheitsverlauf des experimentellen Plasmocytoms verwandten wir Cyclophosphamid (Endoxan [®]) und Trisäthyleniminobenzochinon (Trenimon [®]), indem wir in jeder Versuchsreihe jeweils eine Gruppe der Plasmocytom-Mäuse mit dem einen bzw. anderen Cytostaticum in unterschiedlicher Dosierung behandelten und die Ergebnisse mit einer dritten (Kontroll-) Gruppe verglichen.

Cyclophosphamid - N, N-Bis (β -chloraethyl) -N, O-propylenphosphorsäureester-diamid - weist als zyklischer N-Lost-Phosphamid-ester durch Einführung der elektrophilen Phosphorylgruppe eine verminderte Basizität auf, wodurch die funktionellen β -chloraethyl-Gruppen

in ihrer Wirkungsintensität und der Geschwindigkeit ihrer Aktivierung abgeschwächt werden. Cyclophosphamid ist lokal fast unwirksam und erfährt erst in der Leber seine Umwandlung zu vermutlich mehreren Zwischenprodukten mit cytostatischer Aktivität (11). Nur etwa 10 % des zugeführten Cyclophosphamids werden cytostatisch wirksam, der Hauptanteil aber wird über verschiedene Abbauprodukte oder auch unverändert mit dem Harn ausgeschieden (20). Bei intraperitonealer Anwendung wird das Maximum der cytostatischen Aktivierung im Blut nach 15 Minuten erreicht, um innerhalb von vier Stunden auf etwa 30 % abzufallen und im Verlauf von sechs Stunden weitgehend auszuklingen (20). Cyclophosphamid bildet als Hydrat weiße Kristalle und ist im Wasser gut löslich. Seine DL_{50} beträgt bei der Maus 300 mg/kg i.p. Die klinische Dosierung liegt bei einer Einzeldosis von 3 bis 20 mg/kg; die Gesamtdosis zur Erreichung einer klinischen Remission beträgt 4 bis 8 g. Bei Plasmocytomerkrankungen des Menschen werden als mittlere Tagesdosis etwa 100 mg über Monate verabfolgt (11, 14, 28).

2, 3, 5-Trisäthylenimino-(1,4)-benzochinon (TRIS) weist im Gegensatz zum Cyclophosphamid durch Einführung einer dritten Äthylenimin-Gruppe eine stark gesteigerte und beschleunigte cytostatische Aktivität auf. Durch hydrolytische Spaltung erfolgt äußerst rasch die Öffnung der aktiven Carbeniumgruppen, so daß TRIS bereits lokal cytostatisch intensiv wirksam wird. Als kristalline Substanz ist es in kaltem Wasser schlecht, in warmem Essigwasser jedoch gut löslich. Die DL_{50} beträgt bei der Maus 0,25 mg/kg i.p. Die klinische Dosierung liegt bei einer Einzeldosis von 0,004 bis 0,02 mg/kg. Die Gesamtdosis zur Erzielung einer klinischen Remission beträgt fünf bis zehn mg (11). Die klinische Einzeldosis wie auch die Gesamtdosis liegt demnach etwa bei einem Tausendstel der des Cyclophosphamids. Angesichts seines relativ starken thromboklastischen Effektes ist TRIS bei menschlichen Plasmocytomerkrankungen nicht mit Erfolg verwendbar.

Versuchsserie I:

In der I. Versuchsserie mit 29 Tieren erhielten 9 Mäuse vom Zeitpunkt des Sicht- und Tastbarwerdens eines subcutanen Tumors im Be-

reich der Inokulationsstelle (ab 8. Tag) an jedem 2. Tag Cyclophosphamid in einer Dosierung von 10 mg/kg intraperitoneal injiziert. Andererseits erhielten 11 Mäuse der gleichen Versuchsserie ebenfalls jeden 2. Tag 0,01 mg/kg TRIS intraperitoneal. Diese Dosierung entsprach der Relation von 1000 : 1 bei der klinischen Anwendung und ebenso unseren Erfahrungen bei experimentellen Versuchen über die Beeinflussung der Hätopoese durch diese Substanzen (3). Die mittlere Gesamtdosis betrug pro Maus 84 mg/kg Cyclophosphamid bzw. 0,08 mg/kg TRIS bei durchschnittlich etwa 8 Injektionen. Die mittlere Therapiedauer betrug 15 Tage. Daneben wurden 9 Mäuse ohne Behandlung als Kontrollen mitgeführt.

Das allgemeine Verhalten der Versuchstiere unter der Chemotherapie unterschied sich von dem der Kontrolltiere zunächst nicht. Nach dem Auftreten eines lokalisierten Tumors und der hiermit einhergehenden Reduzierung der Freßlust, der Mobilität und des Allgemeinbefindens verlief das Wachstum des Tumors bei den cytostatisch behandelten Tieren jedoch deutlich langsamer; ihr Allgemeinverhalten besserte sich nicht unwesentlich. Im Verhalten der Tiere war zwischen den mit Cyclophosphamid und den mit TRIS behandelten ein Unterschied insofern erkennbar, als nur die TRIS-behandelten Mäuse eine mehr oder weniger starke hämorrhagische Diathese zeigten.

Der Kurvenverlauf des Körpergewichts (Abb. 2) hingegen fiel bei den cytostatisch behandelten Mäusen bereits bald nach dem Einsetzen der Chemotherapie wesentlich stärker ab als bei den Kontrolltieren und erreichte sein Minimum am 14. Tag nach der Tumordinokulation, um dann nur allmählich wieder anzusteigen. Der Gewichtsverlust betrug bei den Cyclophosphamid-Mäusen durchschnittlich 3,5 g (- 18 %), bei den TRIS-Mäusen hingegen 5 g (- 25 %) und war somit bei letzteren deutlich intensiver ausgeprägt.

Von den 9 mit Cyclophosphamid behandelten Mäusen starb eine am 19. und eine am 22. Tag unter dem Bilde des zunehmenden Tumorstadiums mit abdominaler Volumenzunahme, Atemhinderung und Tumorkachexie (Abb. 1). Die übrigen 7 Tiere waren am 26. Versuchstage sämtlich noch am Leben. Von den 11 mit TRIS behandelten Mäusen starben 6 im Verlauf des 20. bis 25. Tages unter ähnlichen Krankheitszeichen.

Nur 5 Mäuse lebten noch am 26. Versuchstage. Zum Zeitpunkt des Todes des letzten Versuchstieres aus der Kontrollgruppe waren demnach noch 78 % der Cyclophosphamid-Tiere und 45 % der mit TRIS behandelten Tiere am Leben.

Die 50 %-Absterbequote betrug bei den Kontrolltieren 21 Tage, bei den TRIS-Tieren 25 Tage und bei den Cyclophosphamid-Tieren länger als 26 Tage. Das arithmetrische Mittel der Krankheitsdauer der Kontrolltiere lag bei 20,3 Tagen, das der TRIS-Tiere bei mehr als 24 Tagen und das der Cyclophosphamid-Mäuse bei mehr als 25 Tagen. Die mit Cyclophosphamid behandelten Plasmocytom-Mäuse wiesen demnach eine deutlich längere Überlebenszeit auf als die mit TRIS behandelten.

Die am 26. Tag, dem Zeitpunkt des Todes der letzten Kontrollmaus, noch lebenden, behandelten Tiere wurden sämtlich durch Dekapitation getötet. Das Tumorgewicht dieser und der bereits während des Versuchs verstorbenen Tiere ist in Tab. 3 festgehalten. Einem mittleren Tumorgewicht von 3,1 g bei den Kontrollmäusen steht ein Gewicht von jeweils 3,0 g bei den Cyclophosphamid- und TRIS-Mäusen gegenüber. Hinsichtlich des mittleren Tumorgewichtes besteht demnach zwischen unbehandelten und behandelten Tieren kein wesentlicher Unterschied. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, daß bei den behandelten Mäusen dieses Gewicht erst nach einer längeren Krankheitsdauer erreicht wurde, somit die Wachstumsgeschwindigkeit des Tumors verzögert wurde.

Das mikroskopische Bild des Tumorgewebes zeigte bei den cytostatisch behandelten Tieren eine stärker ausgeprägte Zellpolymorphie als bei den Kontrolltieren. Die Dichte der Zellanhäufungen war geringer, das Tumorgewebe stellenweise ausgedehnt nekrotisch oder nekrobiotisch mit häufigen Kernpyknosen und Kerntrümmern (Abb. 13). In der Peripherie der Tumorknoten war das Interstitium deutlicher und faserreicher. Besonders in der Chemotherapie mit TRIS zeigte das Tumorgewebe eine fleckige Nekrotisierung, sowie eine Erweiterung der Lymphspalten, stellenweise mit ausgedehnten Hämorrhagien. Zwischen breiten Bindegewebssepten fanden sich z. T. stärker pyknotische Zellansammlungen (Abb. 14a). Die exzentrische Lagerung

der chromatinreichen Kerne wies jedoch noch deutliche Beziehungen zu den Plasmazellen auf (Abb. 14b).

Die Verlaufskontrollen des Blutzellbestandes (Abb. 5) hatten bei den Kontrolltumortieren eine deutliche Verminderung der Erythrocyten: im Verlauf der 2. Versuchswoche ergeben. Unter der Chemotherapie erfolgte dieser Abfall in etwa gleicher Intensität, jedoch deutlich verzögert. Die Minderung der Erythrocytenzahl auf 61 % der Ausgangswerte wurde bei den Kontrolltieren am 15. Tag erreicht, bei den TRIS-behandelten Tieren erst am 22. Tag und bei den Cyclophosphamid-Tieren am 23. Tag. Der Anstieg der Leukocyten im Blut der Kontroll-Tumortiere erfuhr mit der Chemotherapie zunächst eine beschleunigte Normalisierung, der dann eine rasch fortschreitende intensive Minderung folgte. Diese war unter TRIS am stärksten ausgeprägt und erreichte am 24. Versuchstag 15 % des Ausgangswertes, während die Cyclophosphamid-behandelten Tiere bei 40 % lagen. Der Abfall der Granulocyten war bei den cytostatisch behandelten Mäusen mit 45 % der Gesamtleukocyten am 15. Tage wesentlich deutlicher ausgeprägt als bei den Kontroll-Tumormäusen (73 %). Die Lymphocyten hingegen zeigten bei den Kontroll- und Cyclophosphamid-behandelten Tieren am 15. Tag einen fast gleichen Wert von 55 %, während er bei den TRIS-Tieren nur etwa 40 % betrug.

Das Knochenmark (Tab. 4, Abb. 15) der cytostatisch behandelten Tiere unterschied sich makroskopisch kaum von dem der Kontroll- und Normaltiere, jedoch ergab die quantitative mikroskopische Auswertung bei den cytostatisch behandelten Mäusen eine leichte Minderung mit Werten von 870.000 (= 94 %) unter Cyclophosphamid und von 902.000 (= 98%) unter TRIS gegenüber 1.034.000 bei den Kontrolltieren (=112%). Sieben der mit Cyclophosphamid und fünf der mit TRIS behandelten Mäuse waren erst bei Versuchsende getötet worden. Diese Minderung beruhte im wesentlichen auf einer Beeinträchtigung der Erythropoese und des plasmazellulären Systems, während die Granulopoese eine leichte Steigerung aufwies.

Das Knochenmark gesunder Mäuse enthält normalerweise fast keine Plasmazellen und lymphoiden Retikulumzellen. Bei den Kontroll-Tumortieren fand sich dieses plasmazelluläre, für die Globulinproduktion verantwortliche Zellsystem mit 196.000 Zellen intensiv vermehrt.

Nach der Therapie mit Cyclophosphamid war der Zellbestand mit $13.000/\text{cm}^2$ wieder erheblich gemindert (auf 7 %) und erreichte damit einen annähernd normalen Wert. Dieses Ergebnis konnte mit TRIS nicht erreicht werden. Hier lag der Zellbestand mit $128.000/\text{cm}^2$ noch bei 65 % der Werte der Kontroll-Tumortiere. Nur 3 von 11 mit TRIS behandelten Tieren ließen eine weitgehende Normalisierung des Plasmazellbestandes im Knochenmark erkennen, während die übrigen 8 Mäuse im Schwankungsbereich der Kontroll-Tumortiere blieben. Unter Cyclophosphamid hingegen erreichten 4 von 8 (= 50 %) Plasmacytommäusen eine Normalisierung und 4 blieben weniger beeinflusst.

Die Gesamtzahl aller erythropoetischen Zellen war bei den Kontroll-Tumortieren im Vergleich zu den Normaltieren erhöht, fand sich jedoch bei den cytostatisch behandelten in fast gleicher Stärke bei TRIS wie Cyclophosphamid um etwa 6 % gemindert. Die Granulopoese wies im Gegensatz zur Verminderung der Granulocyten im Blut unter der Chemotherapie eine leichte quantitative Steigerung von + 16 % für Cyclophosphamid und von + 3 % für TRIS gegenüber den Kontrolltieren auf. Hiermit verbunden war eine "Linksverschiebung" mit relativer Zunahme der jungen Reifungsstufen, die jedoch nun geringer war als bei den Kontrollmäusen, besonders unter Cyclophosphamid. Der Gehalt an Megakaryocyten fand sich unter Cyclophosphamid nicht beeinträchtigt, hingegen nach TRIS auf die Hälfte reduziert. Die Beeinträchtigung der Thrombopoese durch TRIS fand ihren Ausdruck in einer z.T. deutlichen hämorrhagischen Diathese, während die Cyclophosphamid- wie die Kontrollmäuse keine gesteigerte Blutungsbereitschaft erkennen ließen.

Untersuchungen des Serumeiweißgehaltes konnten aus organisatorischen Gründen nur bei den Tieren durchgeführt werden, die während der Versuchsdauer bei Tage starben bzw. die am 26. Versuchstage getötet wurden. Den Ergebnissen bei 5 gesunden Mäusen standen daher in der I. Versuchsserie nur 7 der spontan verstorbenen Kontroll-Tumormäuse sowie 7 der getöteten Cyclophosphamid- bzw. 4 der getöteten TRIS-Mäuse gegenüber (Abb. 8). Die Aussagekraft der Ergebnisse ist insofern eingeschränkt, als es sich bei den cytostatisch behandelten Tieren grundsätzlich um noch lebensfähige, am Versuchsende getötete Tiere handelte, bei den Kontrollen hingegen um spontan an ihrer

Krankheit verstorbene Mäuse. Der Gesamteiweißspiegel im Serum der mit Cyclophosphamid behandelten Tiere lag mit $6,9 (\pm 0,9)$ g % und der der mit TRIS behandelten mit $6,7 (\pm 0,9)$ g % um 9 % bzw. um 12 % niedriger als der der Kontrolltiere ($7,6 \pm 2,3$ g %), aber noch deutlich höher als der der normalen Mäuse ($5,4$ g %). Die elektrophoretische Trennung der Serumglobuline ergab bei den tumorfreen Normaltieren einen Gehalt von $0,46$ g % γ -Globulinen, bei den unbehandelten Tumortieren hingegen von $2,27 (\pm 0,5)$ g %. Hiervon unterschied sich der γ -Globulinspiegel der mit Cyclophosphamid behandelten Tiere mit $1,72 (\pm 0,2)$ g % und der der mit TRIS behandelten mit $1,83 (\pm 0,46)$ g % signifikant, während zwischen den beiden Therapieformen ein wesentlicher Unterschied nicht zu verzeichnen war. Von den mit Cytostatica behandelten 11 Tieren der I. Versuchsserie zeigte sich auch nach der Therapie noch bei 10 eine typische Paraproteinämie im γ -Globulinbereich; nur bei einem Tier bot sich eine atypische langsam wandernde γ -Globulinfraktion.

Versuchsserie II:

Die II. Versuchsserie umfaßte insgesamt 31 Balb/c-Mäuse, von denen 10 als Kontrollen ohne Chemotherapie blieben; weitere 10 Tiere erhielten $0,1$ mg/kg i.p. TRIS und 11 Tiere 20 mg/kg i.p. Cyclophosphamid in zweitägigen Abständen. Die Chemotherapie wurde demnach in dieser Versuchsserie mit einer 10fach höheren Dosis TRIS und doppelten Dosierung von Cyclophosphamid durchgeführt als in der I. Versuchsserie. Diese Dosis tolerierten die Versuchstiere ausreichend, wenngleich Freßunlust und verringerte Mobilität erheblich waren. Die Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens der Tiere war bei den TRIS-Mäusen wesentlich stärker ausgeprägt. Hier kam es zu ausgedehntem Haarausfall, insbesondere im Bereich des Bauches, sowie im Bereich der Injektionsstellen zu verschorrenden Hautulcerationen mit deutlich verzögerter Heilungstendenz und verminderter Granulationsbildung. Aber keines der behandelten Tiere verstarb spontan während des Versuchsverlaufs. Die Chemotherapie begann wiederum am 8. Tag nach der Tumortransplantation.

Das Körpergewicht (Abb. 4) zeigte unter der Chemotherapie eine deutliche Abnahme auf etwa 74 % des Ausgangsgewichtes bis zum 28. Tag, um dann unter leichten Schwankungen bei 80 % konstant zu bleiben.

Von den cytostatisch behandelten Mäusen wiesen alle im Bereich der Tumorinokulationsstelle zunächst einen deutlich palpablen Tumor auf, der unter Cyclophosphamid bei 8 von 11 Tieren und unter TRIS ebenso wie bei den Kontrollmäusen bei 5 von 10 Tieren bis zum 34. Tag vollständig verschwand. Bei allen Versuchstieren bildeten sich die Tumoren langsam unter der Chemotherapie zurück, bei den mit Cyclophosphamid behandelten jedoch deutlich frühzeitiger. Während unter den 10 mit TRIS behandelten Mäusen 3 noch einen kleinen Tumorknoten bis zum 49. Tag aufwiesen, war es bei allen mit Cyclophosphamid behandelten Tieren bereits innerhalb von 41 Tagen zum völligen Verschwinden des sichtbaren oder palpablen Tumors gekommen. Das Allgemeinbefinden der Tiere besserte sich zugleich hiermit, so daß ihr Verhalten im weiteren Verlauf dem gesunder Mäuser entsprach. Die Chemotherapie wurde daher am 56. Tag abgesetzt. Bei der Obduktion der Mäuse am 72. Tag waren bei keinem der cytostatisch behandelten Tiere, ebenso wenig wie bei den 5 lebend gebliebenen Kontrolltieren, Reste von Tumorgewebe auffindbar, auch nicht im Bereich der Inokulationsstelle.

Die Verlaufskontrollen des peripheren Blutzellbestandes (Abb. 6) zeigten bei den behandelten wie den unbehandelten Tieren während der zweiten Versuchswoche einen deutlichen Abfall der Erythrocyten, die bei den Kontroll- und bei den mit TRIS behandelten Mäusen für den Zeitraum zwischen dem 13. und 41. Tag fast konstant bei etwa 60 % des Ausgangswertes erniedrigt blieben, während die Cyclophosphamid-Mäuse eine allmähliche Normalisierungstendenz erkennen ließen, die am 41. Tag 83 % des Ausgangswertes erreichte. Die Leukocytenzahl war bei allen PC₅-Mäusen bereits am 8. Tag nach der Tumorinokulation auf mehr als das Doppelte erhöht und stieg während des 20. bis 34. Tages bei den Kontrolltieren bis auf das 4fache des Ausgangswertes, um dann wieder abzuklingen. Demgegenüber zeigten die cytostatisch behandelten Tiere eine fortschreitende Leukocytenminderung, die ihr Minimum am 34. Tag (= 26. Therapietag) mit Werten von 50 % für die mit TRIS behandelten und von 80 % für die mit Cyclophosphamid behandelten Tiere erreichte. Diese Minderung betraf vorwiegend die Lymphocyten, während an der vorausgegangenen Leukocytenvermehrung überwiegend die Granulocyten beteiligt waren. Die Granulocytenzahl normalisierte sich unter der Therapie bis zum 34. Tag,

während die Lymphocyten noch um etwa 50 % vermindert waren. Bei 5 der mit TRIS behandelten und bei 4 der mit Cyclophosphamid behandelten Tiere kam es zu einer Leukopenie unter 5.000 (= 50 %).

Im Knochenmark (Tab. 4, Abb. 16) wiesen die 5 überlebenden, am 72. Tag getöteten Kontrolltiere eine Gesamtzellzahl von $862.000/\text{cm}^2$ auf und damit Werte um 6 % niedriger als bei den Normaltieren. Die cytostatisch behandelten Mäuse, von denen sämtliche am 72. Tage noch lebten und für die Auswertungen getötet wurden, zeigten annähernd normale Werte. Bei den Kontroll-Tumormäusen war das plasmazelluläre System mit $192.000/\text{cm}^2$ Zellen stark vermehrt, bei den cytostatisch behandelten demgegenüber mit $143.000/\text{cm}^2$ unter TRIS bzw. $66.000/\text{cm}^2$ unter Cyclophosphamid deutlich gemindert, wobei wiederum eine erheblich stärkere Besserung durch Cyclophosphamid erzielt werden konnte (Abb. 17). Die Erythropoese fand sich bei den cytostatisch behandelten Mäusen gegenüber den Kontrolltieren (63 % der Norm) deutlich gebessert (TRIS: 90 %, Cyclophosphamid: 97 % der Norm). Die Granulopoese wies ähnlich wie bei der I. Versuchsserie unter Chemotherapie im Gegensatz zur Minderung der Granulocyten im peripheren Blut eine leichte quantitative Steigung gegenüber den Kontrolltieren (85 % der Norm) auf, die nach Cyclophosphamid 98 % und nach TRIS 96 % der Norm betrug. Die Relation von frühen und späten Reifestufen entsprach dem Verhältnis bei gesunden Mäusen. Der Gehalt an Megakaryocyten war bei den Kontrollmäusen stark gemindert (40 % der Norm), zeigte nach der Chemotherapie jedoch normale oder sogar erhöhte Werte. Dementsprechend war bei diesen cytostatisch behandelten Gruppen eine hämorrhagische Diathese nicht zu erkennen.

Der Serumeiweißgehalt (Abb. 9) lag für das Gesamtprotein bei den PC₅-Kontrollmäusen mit 6,5 g % auch in der II. Versuchsserie deutlich höher als bei den Normaltieren, wenngleich nicht mehr so ausgeprägt. Die cytostatisch behandelten Tiere wiesen demgegenüber nur noch Werte von 6,2 g % auf. Eine Vermehrung der γ -Globuline war bei den Kontrolltieren mit 0,8 ($\pm 0,4$) g % noch deutlich, während bei den TRIS-Mäusen nur noch 0,7 ($\pm 0,1$) g % und bei den mit Cyclophosphamid behandelten Tiere sogar nur 0,6 ($\pm 0,1$) g % gefunden wurden; diese Werte überschritten die Norm von 0,46 g % nur noch

geringfügig. Stärker erhöht fanden sich hingegen nun die β -Globuline, besonders bei den cytostatisch behandelten Mäusen, weniger bei den Kontrolltieren, die ihrerseits wiederum eine stärkere α -Hyperglobulinämie aufwiesen. Die Albumine waren kaum gemindert. Bei allen mit Cytostatica behandelten Tieren zeigte sich eine Dysproteinämie im Sinne einer auffälligen β -Globulinvermehrung. Im Vergleich zu den PC₅-Kontrolltieren kann das Verschwinden der Paraproteinfraktion im typischen schmalbasigen oder auch breitbasigen γ -Globulinbereich (Abb. 18) durchaus als Therapieerfolg gewertet werden.

D. SCHLUSSFOLGERUNGEN

Über die Ätiologie und Morphologie verschiedener Plasmazelltumoren bei Inzuchtmäusen vorzugsweise vom Stamme Balb/c und C₃H ist bereits wiederholt berichtet worden (4, 6, 7, 13, 18, 20 - 27). Besonders Balb/c-Mäuse neigen nach entsprechender Stimulierung zu biologisch charakteristischen Plasmazelltumoren mit hämorrhagischem Ascites (18, 22, 27) und Veränderungen im Serumprotein, wobei sich ein dem menschlichen Plasmocytom ähnliches Krankheitsbild bietet: Verbunden mit einer intensiven Wucherung von Plasmazellen im Knochenmark finden sich eine Hypoalbuminämie und Hyperglobulinämie (6, 8, 17, 22, 23, 25, 27) sowie im Serum eine elektrophoretisch nachweisbare intensive Paraproteinämie im γ -Globulinbereich bzw. eine schwere Dysproteinämie (17, 27). Metastasierungen des spontan entstandenen oder experimentell erzeugten Plasmazelltumors der Maus in Milz, Leber, Niere und Lymphknoten sind ausführlich beschrieben worden (6, 27, 29), aber es hat - soweit uns bekannt - in keinem der Fälle eine eingehende Prüfung des Knochenmarks stattgefunden. Während der X 5563-Tumor der C₃H-Maus in den ersten Wochen nach seiner Transplantation keine wesentlichen Veränderungen an anderen Organen verursacht und auch Knochenmark und peripheres Blut frei von neoplastischen Plasmazellen bleiben (6), können später nach einem Zeitraum von mindestens drei Monaten Tumor- und Plasmazellinvasionen in das Knochenmark beobachtet werden (24). Ähnliches ist auch für den PC₅- und den MPC-2A-Plasmazelltumor der Balb/c-Maus kurz erwähnt worden (17).

Cytologisch ähneln die Tumorzellen der verschiedenen Plasmazelltumoren der Maus weitgehend normalen Plasmazellen, doch weisen sie größere und stärker gelappte, exzentrisch gelagerte Kerne auf mit sehr gefleckter und ungeordneter Chromatinstruktur. Auch finden sich häufig doppelkernige oder vielkernige Zellen (5, 6, 33). PC₅-Plasmazellen zeigen, zum Unterschied von undifferenzierten Plasmazelltumoren, in ihrem Cytoplasma große Gebiete endoplasmatischen Retikulums, die zahlreiche zusammenhängende Bläschen bilden, welche keine Ribosomen enthalten (5).

Unsere vom Originalstamm abstammenden Versuchstiere zeigten einen malignen Tumor mit infiltrierendem Wachstum, der vorwiegend aus lymphoiden und plasmazell-ähnlichen Zellen aufgebaut war. Er ging mit einer deutlichen Wucherung weitgehend ähnlicher Zellen im Knochenmark einher, insbesondere auch mit einer erheblichen Paraproteinvermehrung im γ -Globulinbereich. Faßt man Plasmazellen und lymphoide Retikulumzellen als ein einheitliches, an der Plasma-Eiweiß-Produktion gemeinsam beteiligtes System zusammen, so verlief die Steigerung der γ -Globuline im Serum der quantitativen Vermehrung von Plasmazellen und lymphoiden Retikulumzellen im Knochenmark weitgehend parallel.

Bei wiederholten Transplantationen verlor der PC₅-Tumor nach unseren Beobachtungen an Malignität und der Fähigkeit zur Paraproteinbildung im γ -Globulinbereich zugunsten einer heterogenen β -Globulinvermehrung. Plasmocytom-Globuline können in ihrer elektrophoretischen Beweglichkeit variieren, auch wenn sie von Plasmazellen desselben Stammes gebildet werden. Möglicherweise erklärt sich dies dadurch, daß unter den Tumorzellen während des Wachstums auf verschiedenen Wirten oder auch während der langen Zeitläufe eine Auslese stattgefunden hat, während die einzelne Tumorzelle weiterhin nur zur Synthese eines bestimmten Globulins (γ oder β) befähigt bleibt (8, 9). Über die Entstehung der individuellen Heterogenität der Plasmazelltumoren bei der Bildung der Paraproteine sind verschiedene Thesen aufgestellt worden (7, 19, 23-25). Zunächst wird vermutet, daß die Carcinogenese in nur einem Zelltyp der aus verschiedenen Typen zusammengesetzten Plasmazell-Population beginnt und diesen dann verändert (23). Andererseits wäre es möglich, daß alle Plasmazelltumoren von einer einzigen Zellart ausgehen, jedoch die einzelnen Zellen unterschiedliche, individuelle Globulin-Komponenten bilden. Auch ließe sich die Heterogenität dadurch erklären, daß von den malignen Zellen nur homogene Proteine gebildet werden, die später durch Verstoffwechselung eine unterschiedliche Beeinflussung erfahren und so die wechselhafte Proteinsynthese innerhalb der neoplastischen Plasmazellen hervorrufen (7). Ähnlich wie wir es bei dem von uns verwandten PC₅-Tumor beobachten konnten, machte sich auch beim X 5563-Tumor der C₃H-Maus nach achtsigmaliger Weitertransplantation ein Verlust der Differenziertheit bemerkbar,

der sich in verlangsamtem Tumorwachstum und cytologischen Veränderungen äußerte (22).

Wie unsere Versuche mit Cyclophosphamid und Trisäthyleniminobenzochinon zeigen, lassen sich Krankheitsverlauf und Symptomatik des Mäuse-Plasmocytoms cytostatisch beeinflussen, und zwar sowohl hinsichtlich einer Rückbildung und Wachstumsverlangsamung des lokalen Tumorgewebes als auch hinsichtlich einer Rückbildung der plasmazellulären Knochenmarksinfiltration zugunsten einer Erholung der Erythropoese und Granulopoese. Zugleich kommt es zu einer deutlichen Besserung der Paraproteinämie sowie zu einer Verlängerung der Lebenserwartung, gelegentlich auch zur völligen Tumorrückbildung im Sinne einer Heilung. Diese Erfolge waren unter Cyclophosphamid deutlicher als unter Trisäthyleniminobenzochinon.

Die Chemotherapie geht zwangsweise mit Nebenwirkungen einher, so mit Gewichtsverlust und Haarausfall sowie vereinzelt auch mit einer hämorrhagischen Diathese, wie dies besonders bei den mit TRIS behandelten Mäusen zu beobachten war. Zugleich kommt es im Blut zur Minderung der Granulocyten und Lymphocyten, während die durch das Tumorwachstum bedingte Erythrocytenminderung hinausgeschoben wird. Der Allgemeinzustand wird im allgemeinen jedoch wenig beeinträchtigt.

Mit Cyclophosphamid ließen sich bei einer Dosierung von 100 bis 150 mg/kg wöchentlich erstaunliche Erfolge beim X 5563-Tumor der C₃H-Maus und beim PC₅- und MPC-2A-Plasmazelltumor der Balb/c-Maus erzielen mit Tumorverkleinerung, Rückgang der charakteristischen Υ -Globulinspitze und erheblicher Lebensverlängerung (17). Ebenso wurde beim Plasmazelltumor der CAF-Maus mit Cyclophosphamid eine Lebensverlängerung erreicht (33). Von KORST wurde berichtet, daß ansteigende Dosen von Cyclophosphamid eine fortschreitende Depression der Erythropoese im Knochenmark bis dreißig Prozent des Normwertes bewirkten. Bei anämischen und tumortragenden Mäusen schien jedoch die hämatopoetische Toxizität von Cyclophosphamid geringer zu sein (16). Mit Trisäthyleniminobenzochinon sind Versuche bei Mäuseplasmocytomen bisher nicht angestellt worden, jedoch hat es sich bei verschiedenen Experimentaltumoren als stark wirksam erwiesen (32).

Nach unseren Ergebnissen zeigten die mit einer mittleren TRIS-Gesamtdosis von 2,5 mg/kg (25 mal 0,1 mg/kg) innerhalb von 48 Tagen behandelten Mäuse eine etwas stärkere plasmazelluläre Hyperplasie als die mit einer mittleren Gesamtdosis von nur 0,08 mg/kg (8 mal 0,01 mg/kg) innerhalb von durchschnittlich 15 Tagen behandelten, obgleich ihr Allgemeinbefinden weniger beeinträchtigt schien. Dies erklärt sich vielleicht aus der verhältnismäßig langen Versuchsdauer von 72 Tagen, in der eine größere Plasmazellinvasion in das Knochenmark stattgefunden haben kann. Dafür spricht auch die Beobachtung beim X 5563-Tumor der C₃H-Mäuse, bei denen eine Tumor- und Plasmazellinvasion in das Knochenmark erst vom dritten Monat an einsetzt (24).

Die von uns in der I. Versuchsserie gewählte Dosis von 40 mg/kg/Woche Cyclophosphamid (4 mal 10 mg/kg intraperitoneal) bzw. von 0,04 mg/kg/Woche Trisäthyleniminobenzochinon (4 mal 0,01 mg/kg i.p.) erwies sich, obwohl deutliche Erfolge erzielt worden waren, als nicht ganz ausreichend, da unter Cyclophosphamid zwei Tiere und unter TRIS sechs Tiere verstarben. Ein Versuch, mit einer höheren Dosierung zu günstigeren Ergebnissen zu gelangen, mißlang insofern, als die II. Versuchsserie aus organisatorischen Gründen erst viel später begonnen werden konnte und der Tumor bis dahin einem Gestaltswandel unterworfen war, so daß ein Vergleich nicht mehr vorgenommen werden konnte. Immerhin zeigte der zweite Versuch, daß die PC₅-Tumortiere hinsichtlich der Toxizität der Substanzen auch höhere Dosen ausreichend toleriert hätten, zumal keines dieser Tiere an einer Anämie oder Agranulocytose verstorben war.

Vergleichen wir aufgrund unserer Versuche die Wirkung der beiden Cytostatica Cyclophosphamid und TRIS auf den Krankheitsverlauf und die Symptomatik des Mäuseplasmacytoms PC₅, so zeigt sich zunächst, daß beide Cytostatica einen deutlichen, wenngleich unterschiedlichen Einfluß ausüben. Diese Wirkungsunterschiede waren durch die gewählte, den Erfahrungen beim Menschen angepaßte Dosierung nicht erklärbar, da die Seitenwirkungen der Chemotherapie auf die Hämpoese, den Gewichtsverlust und das Allgemeinbefinden der Mäuse unter TRIS sogar noch etwas stärker ausgeprägt waren als unter Cyclophosphamid. TRIS übte eine intensivere und weniger selektive Hemmung der hämpoetischen Zellsysteme aus mit starker Minderung der Thrombo-

poese und geringerer Tendenz zur Regeneration. Die Therapiedauer für beide Cytostatica gleich.

Bei geringerer Toxizität erreichte Cyclophosphamid eine stärkere kurative Wirkung: Die plasmazelluläre Infiltration des Knochenmarks wurde durch Cyclophosphamid deutlich stärker und bei einer größeren Zahl von Versuchstieren gemindert als durch TRIS. Besonders eindrucksvoll zeigte sich die Wirkung von Cyclophosphamid bei der Bestimmung der Serumeiweißkomponenten mittels der Papierelektrophoresen. Das Gesamteiweiß und die γ -Globuline wiesen einen bedeutend geringeren Anstieg als im Serum der Kontrollmäuse auf, die Albumine waren im Verhältnis dazu weniger abgefallen. Mit Trisäthyl-*eniminobenzochinon* konnte eine nicht ganz so deutliche Besserung der Paraproteinämie erzielt werden. Ein Vergleich mit den Elektrophoresen der Cyclophosphamid-Mäuse zeigte eine höhere γ -Globulinspitze bei den mit TRIS behandelten, sowie eine erheblich stärkere Depression der Albumine.

Cyclophosphamid bewirkte bereits in einer relativ geringen Dosis von 40 mg/kg wöchentlich eine Verringerung des Tumorgewichtes und eine beträchtliche Verlängerung der Lebenserwartung. In der II. Versuchsserie beobachteten wir bei einer Dosierung von ca. 80 mg/kg wöchentlich eine vollständige Rückbildung der Tumoren mit Wiederherstellung des normalen Allgemeinbefindens der Versuchstiere. Bei den mit einer TRIS-Dosis von 0,04 mg/kg/Woche behandelten Versuchstieren waren die Überlebensraten deutlich geringer. Von den 11 Mäusen der I. Testreihe starben 6 im Verlaufe des 20. bis 25. Tages. In der II. Versuchsserie mit einer Dosierung von 0,4 mg/kg/Woche konnten wir ebenfalls vollkommene, aber später einsetzende Rückbildung der Tumorknoten beobachten. Die lokale Toxizität von TRIS zeigte sich jedoch in massivem Haarausfall und verschorrenden Ulcerationen am Bauch, dem Ort der häufigen Injektionswundsetzung.

Diese Versuche am PC₅-Plasmocytom der Balb/c-Maus lassen eine spezifischere cytostatische Wirksamkeit des Cyclophosphamids erkennen. Die Vermutung liegt nahe, daß bei einer längeren Versuchsdauer der I. Testreihe und einer etwas höheren Dosierung sich die Ergebnisse für Cyclophosphamid noch günstiger gestaltet hätten.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Der dem menschlichen Plasmocytom cytologisch und eiweißchemisch nahestehende PC₅-Plasmazelltumor wurde auf Balb/c-Mäuse durch subcutane Injektionen von Tumorbrei übertragen und für eine vergleichende Chemotherapie mit dem rasch und intensiv wirkenden Trisäthyleniminobenzochinon einerseits und dem verzögert, erst nach Verstoffwechselung in der Leber wirksam werdenden Cyclophosphamid andererseits benützt.

Zur Beurteilung des Therapieerfolges wurden herangezogen: Das allgemeine Verhalten der Versuchstiere, ihr Körpergewicht, der periphere Blutzellbestand (Erythrocyten, Leukocyten, Granulocyten, Lymphocyten), der Knochenmarkzellgehalt (absolute Gesamtzellzahl, Differenzierung am Markausstrich), der Serumeiweißgehalt, die Serumelektrophorese, die Tumorgewichte (nach Präparierung), das histologische Bild des Tumorgewebes sowie die Überlebenszeit der Tiere. Soweit möglich, wurden die Befunde der einzelnen Versuchsgruppen statistisch ausgewertet.

Die Dosierung betrug in einer I. Versuchsserie 10 mg/kg Cyclophosphamid bzw. 0,01 mg/kg Trisäthyleniminobenzochinon und in einer II. Versuchsserie 20 mg/kg Cyclophosphamid bzw. 0,1 mg/kg TRIS. Diese Dosen wurden jeden zweiten Tag intraperitoneal injiziert. Die noch überlebenden Versuchstiere der I. Serie wurden am 26. Tage, dem Zeitpunkt des Spontan Todes der letzten unbehandelten PC₅-Maus, die der zweiten Serie am 72. Tage nach der Tumortransplantation getötet. Zwischen der I. und II. Versuchsserie kam es aufgrund einer 12maligen Zwischentransplantation zu einem Gestaltswandel des Tumors mit verminderter Malignität und verlängerter Überlebensdauer der Tiere.

Sowohl mit Cyclophosphamid als auch mit Trisäthyleniminobenzochinon waren Tumorheilungen zu erreichen. Cyclophosphamid erwies sich jedoch bei geringerer Toxizität als überlegen wirksam hinsichtlich der Überlebenszeit bzw. Absterbequote der Versuchstiere sowie der Beeinflussung der plasmazellulären Knochenmarkinfiltration und der Serumeiweißveränderungen.

Tabelle 1

Autor Stamm:	Andrew	Hagemann C ₃ H	Schermer Hausmaus	eigene Befunde Mittelwerte von 10 Tieren Balb/c
Erythrocyten (Mill./mm ³)	7,4 - 12,4	7,2 - 11,0	6,1 - 11,5	9,7
Leukocyten (/mm ³)	3 - 18000	2 - 6300	8 - 11000	9900
Granulocyten (%)	8 - 45	23	10 - 60	33
Lymphocyten (%)	27 - 88	63	35 - 87	65
Monocyten (%)	0,5	14	0 - 2	1

Blutzellgehalt bei gesunden Mäusen

Tabelle 2

Autor Stamm	Kahler Hausmaus	Dumas	eigene Befunde Mittelwerte von		
			2 Balb/c	5 C ₃ H	insgesamt 7
Erythropoese	312	180	290	281	286
Granulopoese	553	740	625	607	616
davon Myeloblast-Myeloc	40	380	350	303	327
Metamyel-Segm.	513	360	275	304	289
Plasmaz+lymph.Reticulumz	-	-	-	2	1
Lymphocyt, Monocyten u gr Reticulumzellen	87	80	83	108	95
Megakaryocyten	2	2	2	2	2
Gesamtzellzahl (/cm ²)					917 000

Knochenmarkzellgehalt bei gesunden Mäusen (in ‰)

Tabelle 3

I Versuchsserie			II Versuchsserie
Kontrollen	Cyclophosphamid	TRIS	Kontrollen
6.6	4.8	1.6	10.7
5.9	2.9	0.3	2.6
0.6	3.6	6.0	1.6
0.2	5.0	0.2	3.8
2.3	1.6	6.0	
3.8	1.5	6.2	
2.1	2.4	2.2	
	2.0	0.7	
		1.4	
$\bar{x}$	3.1	3.0	4.7

Tumorgewichte (in g) der Plasmacytom-mäuse

Tabelle 4

Mittelwerte von Tieren	I Versuchsserie P C ₅ -Mäuse				II Versuchsserie P C ₅ -Mäuse			
	Normal-Maus 7	Kontrollen 6	Cyclophosphamid behand. 8	TRIS behand. 11	Kontrollen 4	Cyclophosphamid behand. 5	TRIS behand. 5	
Gesamtzellzahl	917 000	1033 800	870 400	902 200	861 600	888 200	948 100	
Erythropoese	262 300	300 800	237 600	235 300	1 65 000	255 300	235 800	
Granulopoese	564 900	472 400	545 900	488 200	482 000	547 000	532 200	
davan Myeloblast-Myeloc.	299 900	382 500	327 700	322 200	361 600	284 000	285 900	
Metamyel.-Segm.	265 000	89 900	218 200	166 000	120 400	263 000	246 300	
Plasmazellen u. lymph. Reticulumz.	900	196 100	13400	128 400	192 000	659 000	142 900	
Lympho-Monocyten u. gr. Reticulumzellen	87100	63 000	72000	49600	21 800	17 500	35 400	
Megakaryocyten	1800	1500	1500	700	800	2500	1800	

Knochenmarkzellgehalt Absolutwerte/cm²

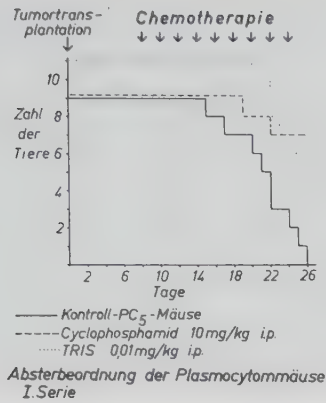


Abbildung 1

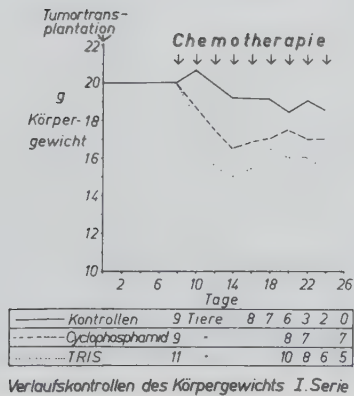


Abbildung 2

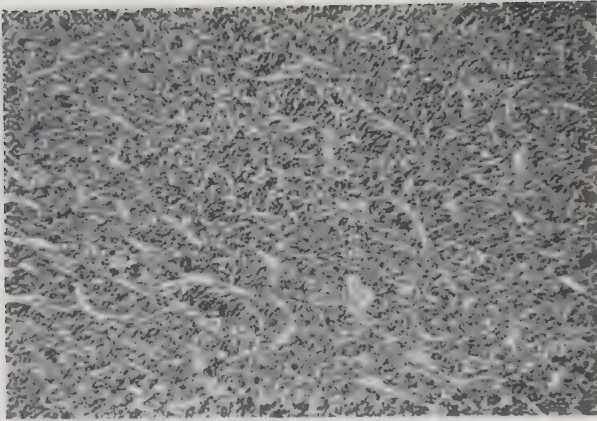


Abb. 3a: Unbehandelte PC5-Kontrollmaus. Übersicht über den histologischen Aufbau des Tumors mit seinem äußerst dichten Zellgehalt bei spärlichem Bindegewebsgerüst. HE.Vergr. 76fach.

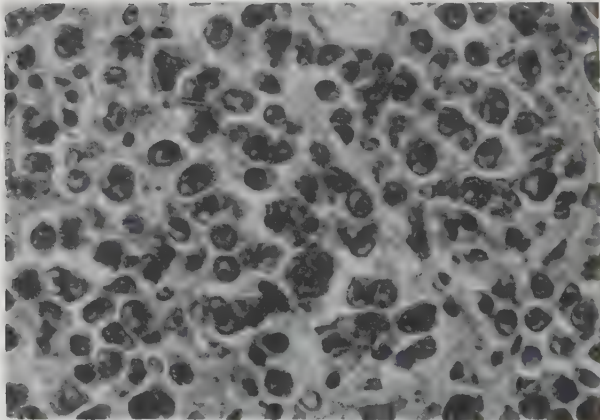


Abb. 3b: Derselbe Tumor zeigt bei stärkerer Vergrößerung einen Aufbau aus Plasma- und lymphoiden Zellen mit polymorphen Kernstrukturen und Chromatinverklumpungen. Vergr. 480fach.

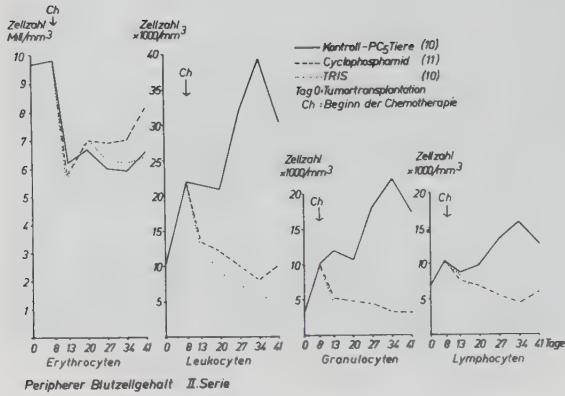


Abbildung 6

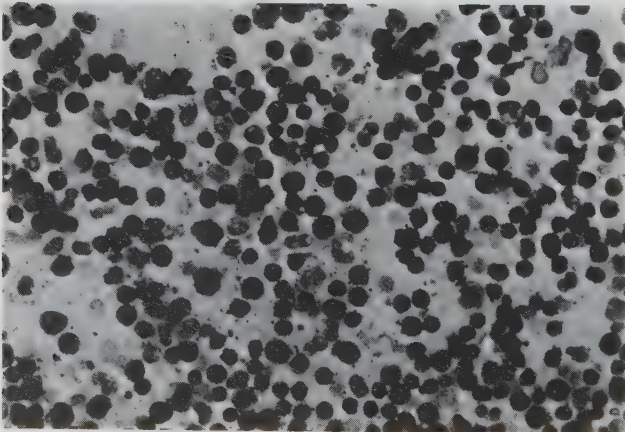


Abb. 7: Plasmazelluläre Infiltration des Knochenmarks bei einer unbehandelten PC₅-Kontrollmaus. Vergr. 480 fach

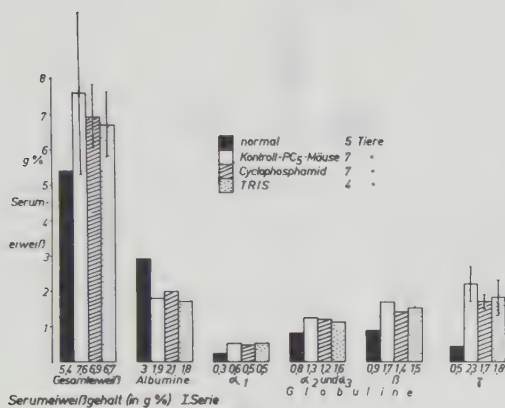


Abbildung 8

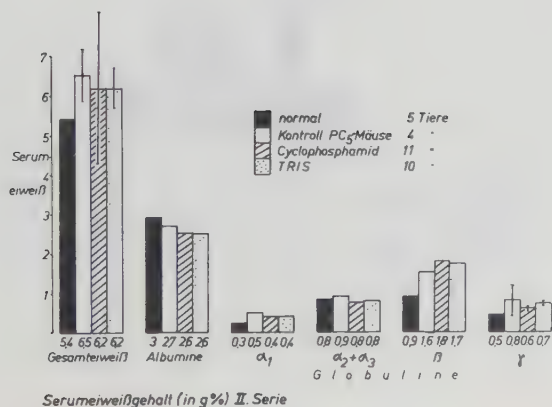


Abbildung 9

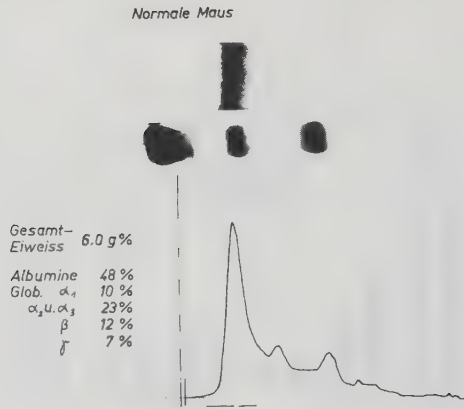


Abbildung 10

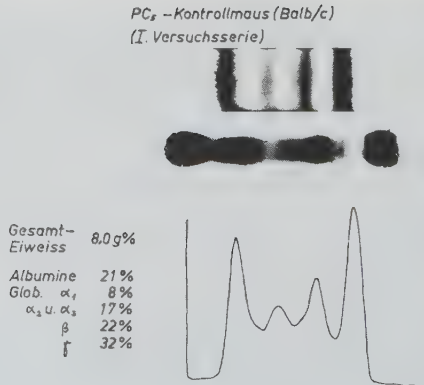


Abbildung 11

PC₅ - Kontrollmaus (Balb/c)
(II. Versuchsserie)

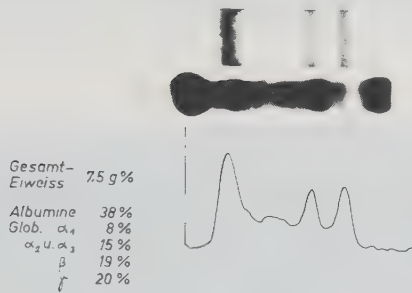


Abbildung 12

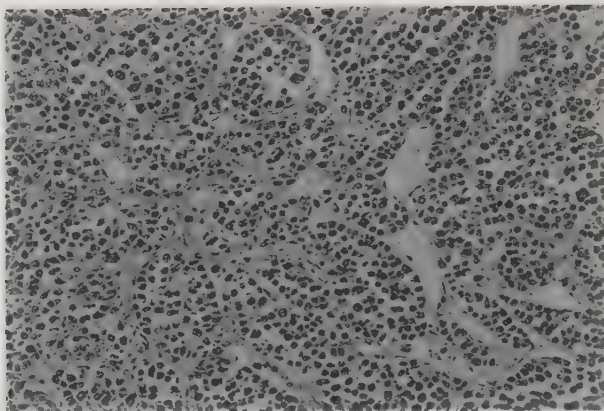


Abb. 13a: Plasmazelltumor nach cytostatischer Behandlung mit Cyclophosphamid. Verstärkung des Fasergerüsts zu netzförmigen Septen. Auflockerung des Zellgehaltes. HE. Vergr. 76 fach.

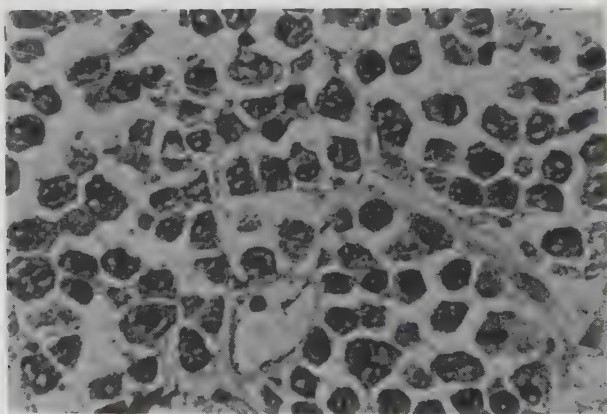


Abb. 13b: Derselbe Tumor bei stärkerer Vergrößerung. Schärfere Zellkonturierung. Deutliche Zeichen der Nekrobiose mit Kernpyknose. Vergr. 560 fach.

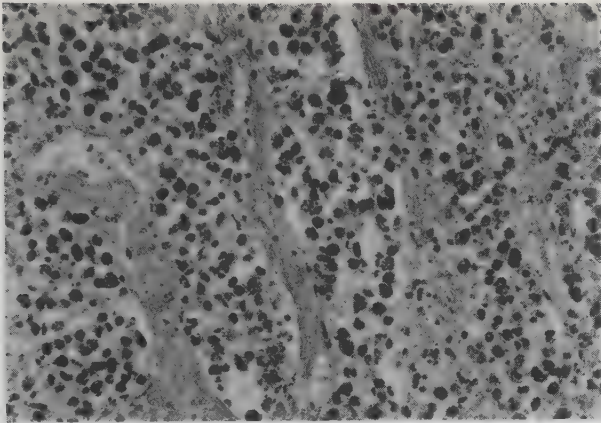


Abb. 14a: Mit Trisäthyleniminobenzochinon behandelter Plasmazelltumor mit verstärkten Bindegewebssepten zwischen aufgelockerten Zellanhäufungen. Vergr. 350 fach.

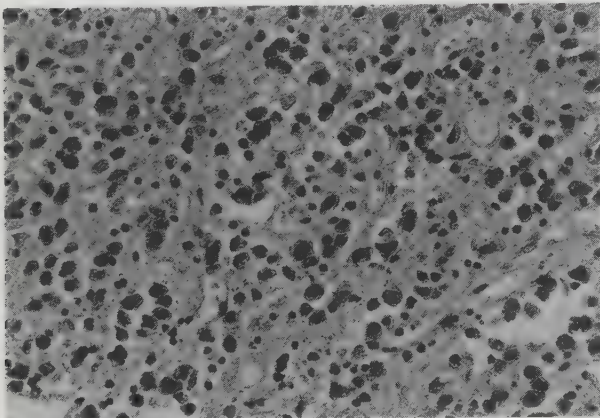


Abb. 14b: Derselbe Tumor zeigt bei stärkerer Vergrößerung die Verdichtung des Gerüsts. Die Zellkerne sind kleiner und chromatinreich, das Cytoplasma deutlicher abgegrenzt. Die Struktur zahlreicher Einzelzellen ähnelt der von Plasmazellen. Vergr. 450 fach.

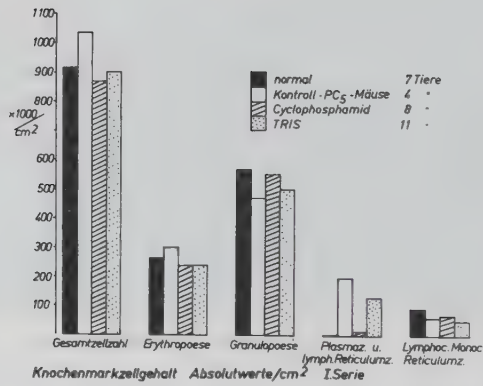


Abbildung 15

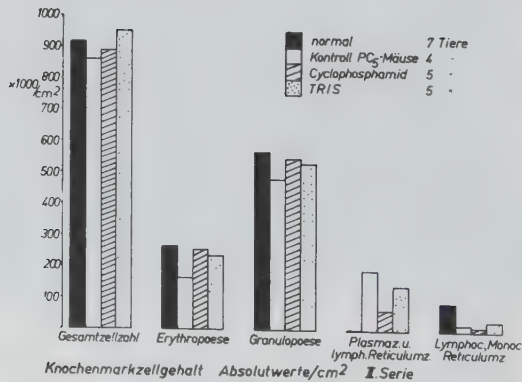


Abbildung 16

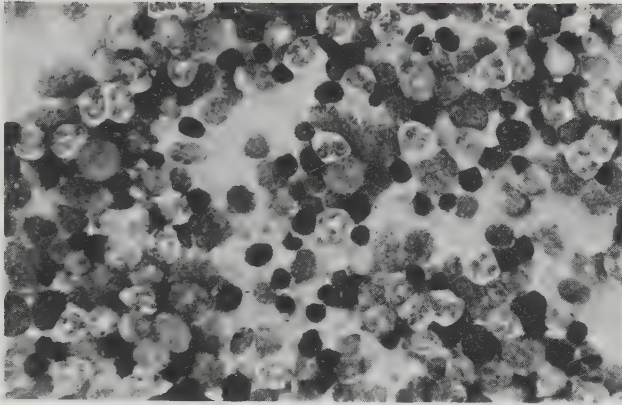


Abb. 17: Rückbildung der plasmazellulären Infiltration des Knochenmarks bei einer cytostatisch behandelten PC₅-Maus. Vergr. 560 fach.

Cyclophosphamid 25x20mg/kg in 48 Tagen

Maus Nr 10
II. Versuchsserie

Gesamt-
Eiweiss 6.0 g%

Albumine	55%
Glob. α_1	5%
α_2 u. α_3	11%
β	20%
γ	9%

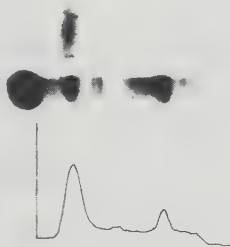


Abbildung 18

F. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Algenstaedt, Dr., H. Gerhartz
u. P. Körtge: The Chemotherapy of myelomas
and malignant reticulosos.
Haemat. Lat. 6 : 251 (1963)

- 2) Andrew, W.: Comparative Hematology.
Grune a. Stratton - New York
(1965) S. 144

- 3) Bierbrauer, U.: Die Wirkung der Cytostatica
Endoxan und Trisäthyleniminoben-
zochinon auf das periphere Blut:
und Knochenmark der Ratte.
Folia haemat.N.F.5 :143 (1961)

- 4) Coban, D. D. a. D. R. Korst: Alterations of γ - Globulin with
plasmacell-neoplasm in mice.
Proc. Soc. exp. Biol. Med.
101 : 356 (1959)

- 5) Dalton, A., M. Potter a.
R. M. Mervin: Some ultrastructural characteri-
stics of a series of primary and
transplanted plasma-cell tumors
of the mouse.
J.nat. Cancer Inst. 26 : 1221
(1961)

- 6) Fahey, I. L.: Distinctive Myeloma Globulins
associated with a new plasma-
cell-neoplasm of strain C₃H
mice.
Blood 15 : 103 (1960)

- 7) Fahey, I. L.: Physiochemical characterization
of mouse myeloma proteins: De-
monstration of heterogeneity of
each myeloma globulin.
J. exp. Med. 114 : 399 (1961)

- 8) Fahey, I. L.: Comparison of serum myeloma proteins in mouse and man (abstract).
Proc. amer. Ass. Cancer Res. 3 : 223 (1961)

- 9) Frenkel, E.P., D. R. Korst a. G. Raggulia: Effects of heterologous transplantation of mouse plasmocytoma. J. Lab. clin.Med.59 : 81 (1962)

- 10) Gerhartz, H.: Corticosteroide in der Nachbehandlung maligner Tumoren. Mitteilungsdiensdt Ges. Bekämpf. Krebskr. Nordrh.-Westf. 2 : 891 (1963)

- 11) Gerhartz, H.: Clinical results with cyclophosphamide and trisethyleneiminoquinone
Lugano 1964.
In P.A. Plattner:Chemotherapy of Cancer. S. 62
(Elsevier Publ.Comp. -Amsterdam 1964)

- 12) Hagemann, E.: Ratte und Maus.
(de Gruyter - Berlin 1960) S. 240

- 13) Hermann, G.: Etudes morphologique et immunoelectrophoretique des tumeurs plasmocytaires induites chez la souris.
C.R. Acad. Sci. 257 : 4071 (1963)

- 14) Kessel, J.,H. Gerhartz, J. Taguchi u. T. Taguchi: Therapeutic results in paraproteinemic diseases and immunoreactions during treatment with cytostatic agents.
Proc.V.intern.Congr.Chemotherapy Washington 1965.Antimicrobial Agents Chemother. 1966, 518

- 15) Köhler, H.:
Blut und blutbildende Organe. B.
Knochenmark.
In P. Cohrs, R. Jaffé u.H.Meessen:
Pathologie der Laboratoriumstiere.
Bd. 1, S. 254
- 16) Korst, D., E. P. Frenkel,
F.D. Johnson, C.D. Coban
a. C. T. Knorpp:
Experimental studies of the biolo-
gic and tumorigenic behavior of
cyclophosphamide.
Proc. VIII. int. Congr. Hematol. -
Tokyo 1960
(Pan - Pacific - Press 1962)
- 17) Korst, D., E. P. Frenkel
a. R. Nixon:
Multiple Myeloma.
Studies of mouse plasma-cell tumor
and human myeloma responsiveness
to cyclophosphamide (cytoxan).
Ann. intern. Med. 60 : 217 (1964)
- 18) Mervin, R. a. L. Redmon:
Induction of plasmacell-tumors and
sarcomas in mice by diffusion cham-
bers placed in the peritoneal cavity.
J. nat.Cancer Inst. 31 : 997 (1963)
- 19) Nathans, D., I.L. Fahey
a. M. Potter:
The formation of myeloma protein
by a mouse plasma cell tumor.
J. exp. Med. 108 : 121 (1958)
- 20) Oppers, J. u. H. Gerhartz:
Zur hämorrhagischen Cystitis unter
der Chemotherapie mit N-Lost-Phos-
phamidestern.
Klin-Wschr. 8 : 450 (1966)
- 21) Ossermann, E. F.:
Life-span-studies of the abnormal
serum γ -globulin in mice bearing
plasmocytoma X 5563.
Proc. amer. Ass. Cancer Res. 2 :
237 (1957)

- 22) Ossermann, E. F. a. A. Rif-kind: Studies of morphogenesis and protein-synthesis in three mouse-plasmacelltumors (X 5563, ADJ PC_{6c}, ADJ PC₂₀).
Ann.N.Y.Acad.Sci. 113 :627 (1964)
- 23) Potter, M.a.I. L. Fahey: Studies on eight transplantable plasmacell-neoplasms of mice.
J.nat.Cancer Inst.24 : 1153 (1960)
- 24) Potter, M., I. L. Fahey a. H.I. Pilgrim: Abnormal serum protein and bone destruction in a transmissible mouse-plasmacell-neoplasm (Multiple Myeloma).
Proc. Soc.exp.Biol.Med. 94 : 327 (1957)
- 25) Potter, M. a. E. L. Kuff: Myeloma globulins of plasma-cell-neoplasm in inbred mice. I. Immunoelectrophoresis of serum, with rabbit antibodies prepared against: microsome fractions of the neoplasms.
J.nat.Cancer Inst. 26 : 1109 (1961)
- 26) Potter, M. a. L. W. Low: Studies of a plasma-cell-neoplasm of the mouse.
J. nat.Cancer Inst. 18 : 413 (1957)
- 27) Potter, M. a. Ch. Robertson: Development of plasma-cell-neoplasm in Balb/c mice after intraperitoneal injection of paraffin-oil adjuvant and heatkilled Staphylococcus mixtures.
J.nat. Cancer Inst. 25 : 847 (1960)
- 28) Ramsbott, C., H. Gerhartz u. P. Obrecht: Zur Lebenserwartung unbehandelter und behandelter Plasmocytom-Kranker. Blut (im Druck)

- 29) Rusk-Nielsen, R.a. H. Gormsen: Spontaneous and induced plasma-cell-neoplasm in a strain of mice. Cancer 4 : 387 (1951)
- 30) Sandkühler, St.: Über quantitative Untersuchungen von Knochenmarkausstrichen. Schweiz, med. Wschr. 1955, 943
- 31) Schermer, S.: Blut und blutbildende Organe. A. Blut.
In P. Cohrs, R. Jaffé u. H. Meessen: Pathologie der Laboratoriumstiere. Bd. 1, S. 200
(Springer - Berlin 1958)
- 32) Schmähl, P.: Entstehung, Wachstum und Chemotherapie maligner Tumoren.
(Cantor - Aulendorf 1963) S. 172
- 33) Yankey, S.: Plasma-cell-neoplasm arising in a CAF mouse. Characteristics and response to certain therapeutic agents. J.nat. Cancer Inst. 33 : 373 (1964)

Herrn Professor Dr. med. H. Gerhartz danke ich sehr für die Überlassung des Themas, sein Interesse sowie seine ständige Bereitschaft mich mit Rat und Tat zu unterstützen.

Zugleich danke ich den med.-techn. Assistentinnen Frau Hoppe und Fräulein Barthel für ihre Hilfe.

Lebenslauf

Am 22. 6. 1940 wurde ich, Hannelore Lintzen, geb. Fuchs, als Tochter des Zahnarztes Dr. med. dent. Richard W. Fuchs und seiner Ehefrau Charlotte, geb. Küstner, in Oppeln/Oberschlesien geboren. Nach Flucht und Internierung wurde ich 1946 in Berlin eingeschult. 1948 übersiedelten wir nach Weilheim/Teck und 1953 nach Heilbronn, wo ich im Frühjahr 1959 am dortigen humanistischen Theodor-Heuss-Gymnasium die Reifeprüfung ablegte.

Mit dem Sommersemester 1959 begann ich mein zahnmedizinisches Studium an der Universität München und studierte nach drei Semestern weiter an der Universität Erlangen, wo ich im Sommer 1961 die Zahnärztliche Vorprüfung bestand. Die ersten klinischen Semester absolvierte ich an der Universität Freiburg, die folgenden drei an der Freien Universität Berlin. Hier legte ich nach einem Gesamtstudium von zehn Semestern am 6. August 1964 die Zahnärztliche Prüfung ab.

Zur Zeit übe ich meinen Beruf als Zahnärztin in einer Praxis bei Bonn aus.

